

【要約】

Intake of glucoraphanin during juvenile and adolescent stages
prevents cognitive deficits in adult offspring after maternal
immune activation

(小児期・思春期のグルコラファニンの摂取は、
妊娠期に免疫活性化した母マウスから生まれたマウス
の成人期における認知機能障害を予防する)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：伊豫雅臣教授)

松浦 暁子

【目的】統合失調症の初回精神病エピソード前に、認知機能障害を含めた様々な前駆症状が観察されることが報告されている。この前駆期には酸化ストレスおよび炎症が関係していることが示唆されており、近年、統合失調症の発症を予防する試みが注目されている。

Nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2)は酸化ストレスにおいて、中心的な役割を担う転写因子であり、Antioxidant response element (ARE) に反応し、多くの抗酸化作用に関わる遺伝子発現を引き起こす。通常、Nrf2はKelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1)によって抑制されており、Keap1-Nrf2システムは、酸化ストレスにおいて重要な役割を果たしている。

強力な抗酸化作用をもち、アブラナ科の野菜（例えばブロッコリースーパープラウト）に含まれる sulforaphane (SFN : 1 isothiocyanato-4-methylsulfinylbutane)は、前駆体 glucoraphanin (GF) として存在している。

これまで、当研究室では、SFNが覚せい剤または phencyclidine (PCP)の投与後のマウスで行動異常や脳内ドパミン神経障害を予防できることを報告している。さらに、思春期の0.1%のGFを含む餌の摂取がPCPによる行動異常や脳内における酸化ストレスを改善することを報告している。このように、SFN（またはGF）が統合失調症の予防に治療的な影響できる可能性が示唆された。

妊娠期における Polyriboinosinic-polyribocytidilic acid [Poly(I:C)]を投与した動物は、maternal immune activation (MIA)による統合失調症の動物モデルとして幅広く用いられている。妊娠マウスに合成二本鎖RNAアナログで Toll-like 受容体のリガンドである Poly(I:C)を投与すると、生まれた仔マウスは行動異常などを示すことが報告されている。

本研究の目的は、統合失調症の発症予防を目的として、妊娠期感染モデルを用いて、小児期、思春期における抗酸化物質GFを含む餌の摂取が、成熟期における行動異常や脳組織化学的变化を予防するかどうかを調べた。

【方法】1つめの実験では、妊娠5日目 ddY マウスを購入し、各ケージに1匹ずつ飼育する。飼育する部屋の温度は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 5\%$ に設定した。マウスは水と餌には自由に摂取できるよ

う設置した。妊娠 13 日目より Saline (5 ml/kg)もしくは Poly(I:C) (5 mg/kg/day)を連続 6 日間投与し、生まれた仔マウスを母マウスと一緒に飼育した。3 週齢で離乳を行い雄マウスのみを用いて、4 週齢で Locomotion test、Nobel-Object-Recognition test(NORT)、および Parvalbumin (PV) による免疫組織化学的評価を行った。Locomotion test では SCANET-SV10 を用いて 1 時間の運動量を測定した。NORT では、1 日目から 3 日目まで 10 分間同じ場所での habituation を行った。4 日目に二つの物体を置き、training session を行い、各マウスの探索時間を測定した。この場合、どちらかの物体を探索する割合は約 50%としている。次に、24 時間後、一つの物体を新しい物体に交換し、探索時間を測定し、認知機能を測定した。

2 つめの実験では、妊娠 5 日目 ddY マウスを購入し、妊娠 13 日目より Saline (5 ml/kg)もしくは Poly(I:C) (5 mg/kg/day)を連続 6 日間投与した。3 週齢で離乳し、雄マウスのみを用いて、同様にした 4 週齢のマウスの脳で、リアルタイム PCR 法により前頭皮質および海馬の *Keap1* および *Nrf2* の mRNA 発現量を測定した。

3 つめの実験では、妊娠 5 日目 ddY マウスを購入し、妊娠 13 日目より Saline (5 ml/kg)もしくは Poly(I:C) (5 mg/kg/day)を連続 6 日間投与した。3 週齢で離乳し、雄マウスのみを用いて、4 週から 8 週まで 0.1% GF を含む餌もしくは通常の餌を摂取させた後、その後は通常の餌を摂取させ、これにより、Saline + control 群, Saline + GF 群, Poly(I:C) + control 群, Poly(I:C) + GF 群の 4 群に分け、10 週齢以降で Locomotion test、Nobel-Object-Recognition test(NORT)、および PV による免疫組織化学的評価を行った。0.1% GF を含む餌については、特別な加工により作成されたものである。

【結果・考察】4 週齢の Locomotion Test では、Saline 群と Poly(I:C) 群で有意な差はなかった。NORT では training session では 2 つの群に有意な差はなく、retention session において Poly(I:C)群で有意に探索時間が低下し、認知機能障害を示した。PV による免疫組織化学的評価では、生食群と比較し、Poly(I:C)群で有意に PV 陽性細胞の出現が低下していた。

前頭皮質での *Keap1* と *Nrf2* の mRNA の発現量は Saline 群と Poly(I:C)群とを比較し有意な差はみられなかった。また海馬では *Keap1* の発現量は生食群と比較し Poly(I:C)群で増加し、*Nrf2* の発現

量は Poly(I:C)群で減少していた

10 週齢の Locomotion Test では、4 つの群に有意な差はなかった。NORT での training session では 4 つの群に有意な差はなく、retention test において、Poly(I:C) + control 群で探索時間が低下し、Poly(I:C) + SFN 群において有意に改善が得られていました。Poly(I:C) + control の投与群では認知機能障害が観察され、Poly(I:C) 群に GF 餌を投与した群では、認知機能障害は改善した。前頭皮質のうち前辺縁皮質領域において、Poly(I:C) + control 群で有意に低下し、Poly(I:C) + SFN 群で改善が見られた。下辺縁皮質領域においては、4 つの群に有意な差は認められなかった。さらに、Poly(I:C) 投与による前頭皮質での PV 陽性細胞の低下は、GF の摂取により改善された。本研究から、小児期・思春期に GF を多く含む食物の摂取は、妊娠期の感染により生まれるマウスの成人期の行動異常および前頭皮質の PV 細胞の減少を抑制することが判った。

【結論】 以上の結果より、精神病のハイリスク児における GF を豊富に含む食事の摂取することにより、精神病の発症を予防する可能性があることが示唆された。